

地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム (SATREPS)

(生物資源分野「生物資源の持続可能な生産・利用に資する研究」領域)

「インドネシアにおける統合バイオリファイナリーシステムの開 発」

(インドネシア共和国)

国際共同研究期間*1

平成 25 年 11 月 28 日から平成 30 年 11 月 27 日まで

JST 側研究期間*2

平成 24 年 6 月 1 日から平成 30 年 3 月 31 日まで

(正式契約移行日 平成 25 年 4 月 1 日)

*1 R/D に記載の協力期間

*2 開始日=暫定契約開始日、終了日=R/D に記載の協力期間終了日又は当該年度末

平成 26 年度実施報告書

代表者： 荻野千秋

国立大学法人神戸大学大学院工学研究科 准教授

<平成 24 年度採択>

I. 国際共同研究の内容（公開）

1. 当初の研究計画に対する進捗状況

表 1 各研究題目（Output）の年次計画

研究題目・活動 [Output]	H24年度 (10ヶ月)	H25年度	H26年度	H27年度	H28年度	H29年度 (12ヶ月)
1 効率的なバイオマス前処理条件の確立						
1-1 副産物生産を抑制し水熱処理（または他の方法）によるOP EFB*とサトウキビバガス処理条件の確立	←—————→					
1-2 スケールアップ				←—————→		
2 バイオマス分解に適した酵素の評価						
2-1 OP EFBとサトウキビバガス分解に最適なセルラーゼとヘミセルラーゼを同定	←—————→					
2-2 カビ（または放線菌）によるタンパク質生成システムを確立	←—————→					
3 バイオ燃料（エタノール）とバイオ化学品（乳酸）を生産する微生物開発と発酵						
3-1 OP EFB（またはサトウキビ・バガス）とセルラーゼ酵素の組合せによる酵母株の増殖評価	←—————→					
3-2 InaCC**株からキシロース資化能力を持つアーミング酵母株の確立		←—————→				
3-3 効率的な分離技術の確立		←—————→				
4 バイオマスからバイオベースポリマーを開発						
4-1 PLA***の純度を改善するための製造方法の確立	←—————→					
4-2 PLAをベースとしたバイオ・ナノ複合物と熱可塑性ポリマーをベースとした代替石油へのセルロース・ナノファイバーの生産	←—————→					

4-3	リグニン由来の低ホルムアルデヒド接着剤の開発		←						→
5	フィージビリティスタディと統合バイオリファイナリープロセスの構築								
5-1	バイオ燃料（または生化学的な）生産のための日本とインドネシアの企業間のマッチング会議の実施		←						→

* OP EFB: Oil Palm Empty Fruit Bunch

** InaCC: Indonesian Culture Collection

*** PLA: polylactic acid

プロジェクト全体の状況

上記表 1 に本提案研究で計画している 5 つの Output の年次計画を示す。現時点を赤破線で示しおり、全ての項目で、ほぼ予定計画通りに進行していると判断する。以下に 2014 年（H26 年）度の成果概要と 2015 年（H27 年）度の研究計画を示す。

Output 1: 効率的なバイオマス前処理条件の確立

2014 年(H26)度は、バガスを原料として、希硫酸前処理法に取って代わる新しい有機酸による前処理法の条件を見出す事が出来た。しかしながら、その詳細な条件(最適条件の確定)に関しては未だ検討が必要な状態である。

2015 年(H27)度は、希硫酸前処理に変わる有機酸前処理法の最適化条件の検討、および有機酸と組み合わせが可能となるような添加剤の効果について探索および検討を行う。神戸大学では、LIPI の研究者を 2 名短期派遣にて招聘予定であり、実験手法および分析方法の指導を行う計画である。LIPI には、神戸大学と同様の機材をすでに導入しており、この研修を通して、神戸大学、LIPI において実験を両サイトで実施可能となる。また、この中の結果については論文として最低 1 報を英文誌に投稿を計画している。

Output 2: バイオマス分解に適した酵素の評価

2014 年(H26)度は、バガスを原料として使用することで、神戸大学側において NBRC より提供のあった放線菌ライブラリーに対して探索を行い、数株のバイオマス分解能力を有する放線菌株の同定に成功した。更に、LIPI においても BTCC (RC Biotechnology 所有の微生物コレクション) より複数株の単離に成功した。これらの結果は、これまで糸状菌での単離が多かったセルラーゼ生産株が、放線菌にも存在していることを示唆した結果であり、非常に新規性のある結果である。また、

2015 年(H27)度は、これらの優位性が示された数種類の放線菌株よりセルラーゼ遺伝子の網羅的単離と機能評価を実施する。神戸大学および長崎大学では、LIPI より研修者を招聘して、遺伝子単離に関する技術指導を行うとともに、自身においてもバイオマスを高効率に分解する酵素について遺伝子をクローニングする。そして、得られた遺伝子を用いて組換え酵素の大量生産技術を開発し、得られた酵素製剤の前処理済みバイオマスに対する作用性を [Output 1] と連動して評価する。

Output 3: バイオ燃料（エタノール）とバイオ化学品（乳酸）を生産する微生物開発と発酵

2014年(H26)度は、神戸大学においてNBRCライブラリーよりエタノール発酵生産株として複数株の単離に成功している。また、乳酸生産用の全くエタノールを生産しないクラブトリーネガティブ株の選抜にも成功した。LIPI においても、BTCC ライブラリーを用いることで、神戸大学での選抜方法を適用した結果、同様の選抜結果を得るに至った。

2015年(H27)度は、これまでに見出された全ての株に関して発酵実験および遺伝子工学的手法によるアーミング技術の適用性を評価する。まず、エタノール生産株に関しては実際のバガス糖化液（もしくは前処理バガス）を用いて、エタノールの高濃度生産を目指す。そして、中間目標値である 50g/L の目標値を達成することを目指す。乳酸生産株に関しては、乳酸合成遺伝子を導入することで、まずはグルコースからの生産を検討し、その後に実バイオマスからの生産を検証する。神戸大学では、LIPI の研究者を2名派遣(SATREPS による招聘および国費留学生制度の活用を目指す)にて招聘予定であり、分子生物学、および発酵技術の技術指導を日本側にて実施予定である。

Output 4: バイオマスからバイオベースポリマーを開発

2014年(H26)度は、LIPI においてポリ乳酸を合成可能とする化学触媒を開発し、乳酸からのポリ乳酸合成に成功した。神戸大学わがにおいては、このサンプルの分子量測定等を行い、その分子量がまだ、市販品のポリ乳酸には至っていない事が明らかとなっている。

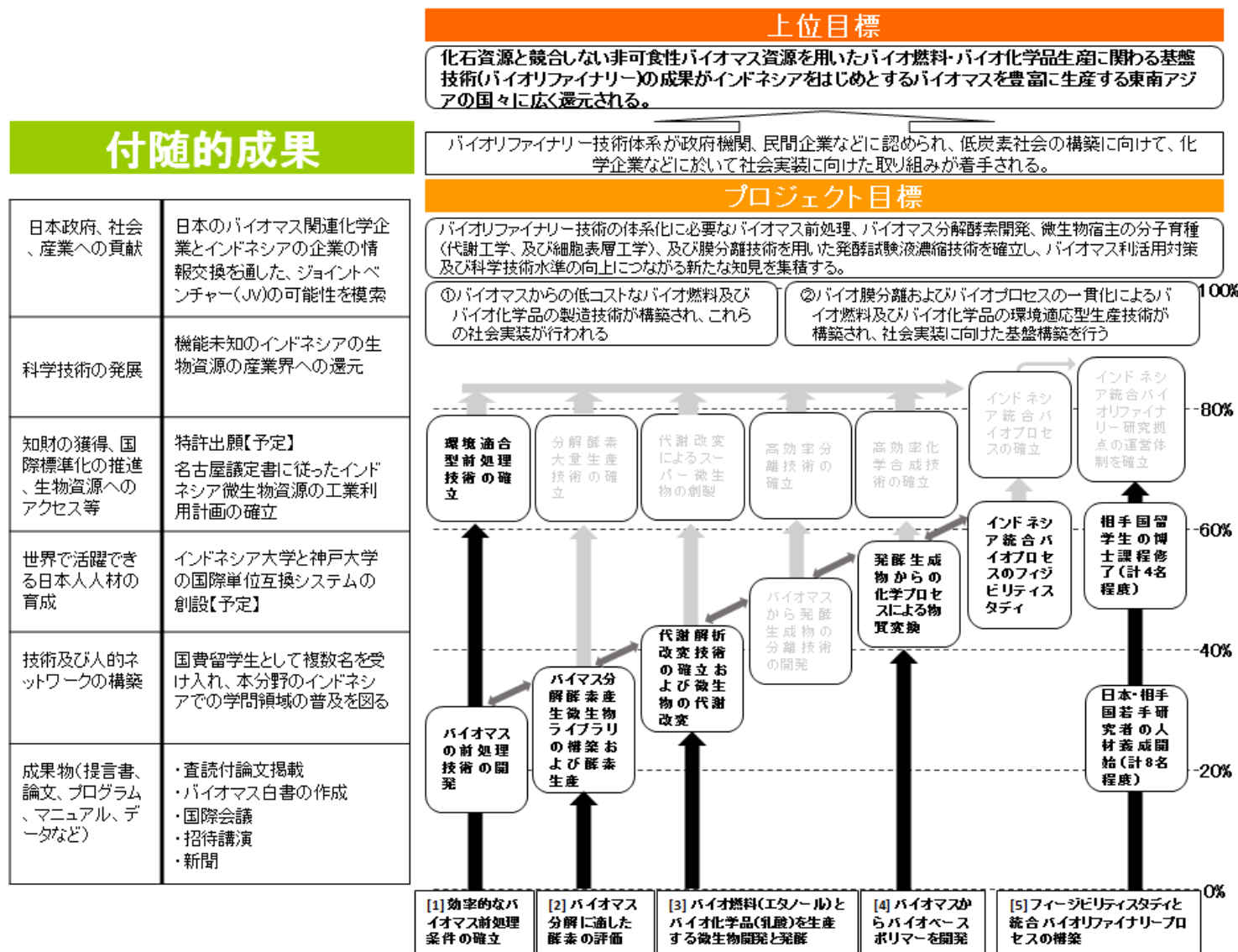
2015年(H27)度も、昨年同様に、化学触媒の機能開発を推進する。特に、水系にて機能を発揮する化学触媒を開発する計画である。また、バイオポリマーの修飾、そしてバイオポリマーとセルロースおよびバイオポリマーのみからなる複合材料開発による高機能化についても検討する。更にはリグニンの有効利用性についても調査を開始する。神戸大学では、昨年に引き続き、LIPI にて作成されたサンプルの分析を行い、その結果に基づいて学術的側面からの指導を行う。

Output 5: フィージビリティスタディと統合バイオリファイナリープロセスの構築

2014年(H26)度は、サトウキビプランテーションの見学と、その廃棄バイオマス(バガス)の有効利用の可能性について、現場を見学することで、問題点を洗い出す事が出来た。また、同時に、日本の企業3社とインドネシアに同行し、現地の企業との情報交換の場(ビジネスミーティング)をセッティングすることも出来た。その中から、個別であるが、今後の共同プロジェクトに繋がる意見交換も出来た。さらには、第1回バイオリファイナリーシンポジウムを9月にボゴールにて実施する事が出来、広く一般の方々に本領域の状況を理解して頂く機会を得た。

2015年(H27)度は、昨年度に引き続き、インドネシアのプランテーション現場(今年度はパームを予定)見学と、新大統領が計画しているサイエンステクノパーク計画によるバイオマスコンビナートの可能性に意見交換を行う予定である。さらには、継続して、日本企業とインドネシア企業間でのビジネスマッチングの機会(ビジネスミーティング)を設ける計画である。そして、バイオマスコンビナート計画、もしくはバイオリファイナリーの社会実装を推進していく。

<成果目標シート> (現時点までの達成項目を黒字で記載)



2. プロジェクト成果の達成状況とインパクト

(1) プロジェクト全体

・プロジェクト全体のねらい、当該年度の成果の達成状況とインパクト等

20世紀の急速な石油化学産業の発展により石油リファイナリーが確立され(図1)、石油を分留して得られるガソリン・灯油・軽油は、燃料として利用され、ナフサからは、多様な化学品・ファインケミカルが統合された形で効率よく安価に作られるようになり、豊かな社会を作り出すことに大きく貢献した。しかしながら、限りある石油資源に全面的に依存するようになったことから、必ずやってくる石油資源の枯渇、そして二酸化炭素排出量の飛躍的な増加による地球温暖化など、世界的規模での経済発展と環境問題が根本的に脅かされるようになった。二酸化炭素濃度の上昇は、近年、顕著な増加傾向を示しており、この傾向は石油化石資源の使用量増加と相関があり、石油資源の利用量を抑制する事で石油資源を代替する新しい資源を模索する試みがなされている。

これらの問題を克服し、安全で持続的に発展できる低炭

素循環型未来社会を実現する上で、再生可能な資源バイオマスがその有力な候補の一つとして考えられている。石油資源に依存しているオイルリファイナリーから、バイオマスを原料として多様なバイオベース製品(バイオマスから生産された燃料や化学品)の生産を行なうバイオリファイナリーへの転換を

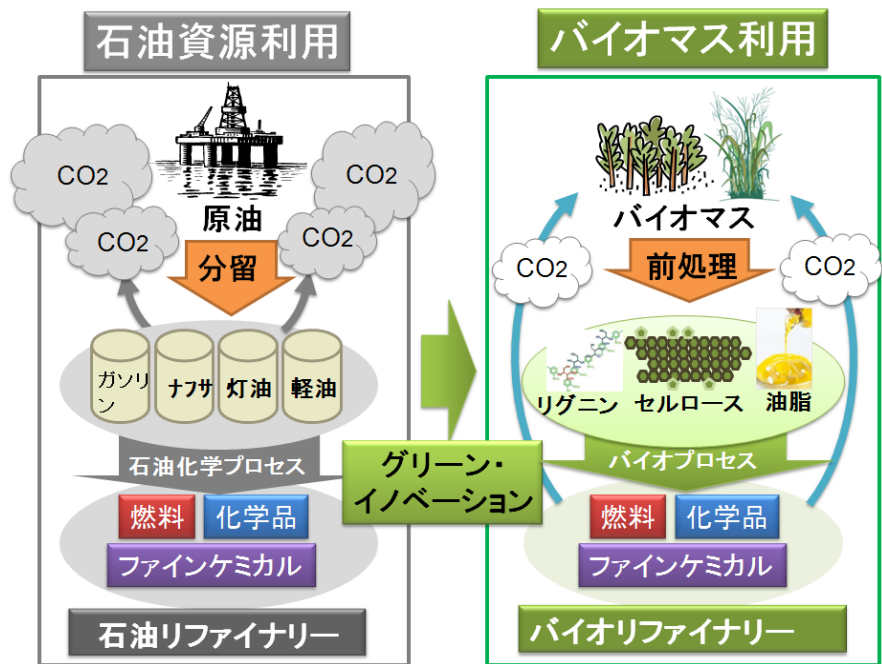


図1 石油リファイナリーからバイオリファイナリーへの転換

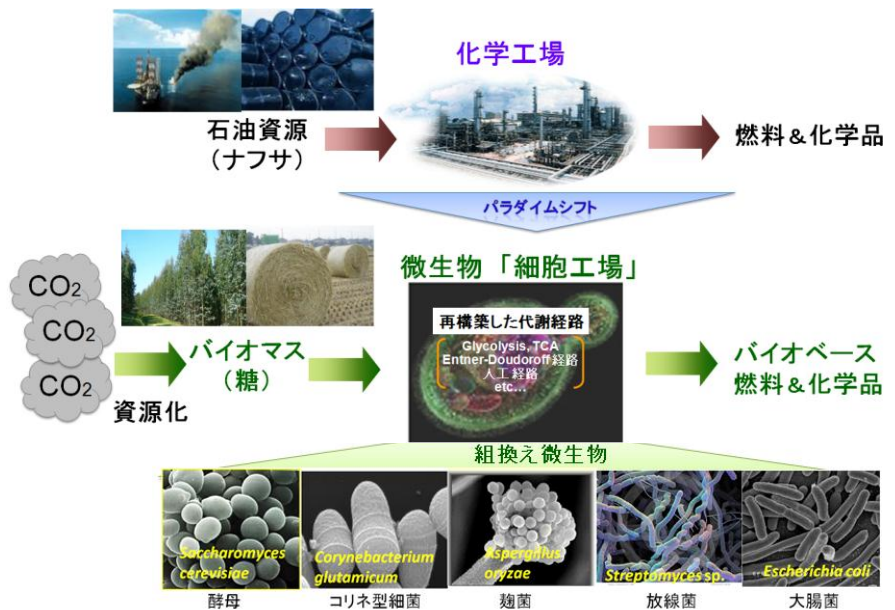


図2 石油化学工場から微生物「細胞工場」へ：パラダイムシフト 二酸化炭素の資源化と、再生可能エネルギー・化学品の高効率生産

図り、脱石油を推進することは極めて重要である。バイオマスは大気中の二酸化炭素を固定して成長するため、バイオベース製品からは正味の二酸化炭素の排出が起きない（カーボンニュートラルと呼ばれる）。バイオリファイナリーは、二酸化炭素をバイオマスとして資源化し、先端バイオ技術を駆使して再生可能なエネルギーや化学品を高効率生産する革新技术と言える。バイオマスとしては、食料と競合しない非可食バイオマス、すなわちセルロース系バイオマス（木本や草本系バイオマス：木材、稲わらや麦わら、エネルギー作物など）を活用する。具体的には、図2に示す様に、「細胞工場」（代謝経路を人工的に再構築して目的とする化合物を高効率に生産できる“ものづくり”工場の様にした組換え微生物）を開発し、バイオマス中に含まれる糖から多様な燃料や化学品を高効率に作り出す「細胞工場」を確立することで、石油化学工場で石油から製造している製品群をバイオベース製品に大転換することが可能となる。これは、世界規模での化学産業構造を大きく変貌させる事が出来る、大きなパラダイムシフトである。

このような世界的規模での潮流を背景に、インドネシアは世界有数のプランテーションを有する農業産業を中心とする国であり、既に多様なバイオマス資源の存在が明らかになっている(図3)。そこで本研究では、パーム油搾汁残渣、およびサトウキビ搾汁残渣を原料として、神戸大学が有するバイオリファイナリー技術によって、本プロジェクト下において「バイオリファイナリー」技術の確立を目指す。本研究の遂行によって、インドネシアで確立出来れば、

Biomass	Main region	Production [million t/year]	Technical energy potential [million GJ/year]
Rubberwood (ゴム)	Sumatera, Kalimantan, Java	41 (replanting)	120
Logging residues (伐木)	Sumatera, Kalimantan	4.5	19
Sawn timber residues (製材残基)	Sumatera, Kalimantan	1.3	13
Plywood and veneer production residues (合板残材)	Kalimantan, Sumatera, Java, Irian Jaya, Maluku	1.5	16
Sugar residues (サトウキビ残渣)	Java, Sumatera, South Kalimantan	Bagasse: 10 Cane tops: 4 Cane leaves: 9.6	78
Rice residues (稲わら残渣)	Java, Sumatera, Sulawesi, Kalimantan, Bali/Nusa Tenggara	Husk: 12 Bran: 2.5 Stalk: 2 Straw: 49	150
Coconut residues (ココナッツ残渣)	Sumatera, Java, Sulawesi	Shell: 0.4 Husk: 0.7	7
Palm oil residues (パームオイル残渣)	Sumatera new areas: Kalimantan, Sulawesi, Maluku, Nusa Tenggara, Irian Jaya	Empty fruit bunches: 3.4 Fibres: 3.6 Palm shells: 1.2	67

図3 インドネシアにおける廃棄性セルロースバイオマス量

(1) 石油資源に依存しない、(2) 廃棄物性のバイオマス資源の有効利用、そして(3) 化学産業の大きな変革、などの社会的・経済的インパクトがあると考えられる。

(2) Output 1: 効率的なバイオマス前処理条件の確立

①研究のねらい

ターゲットとする2種類のバイオマスに対する効率的な前処理法の確立を目指す。具体的には、希硫酸処理を比較対象として、水熱処理法をベースに、新しい前処理法をバガスとEFBに対して検討した。

②研究実施方法

昨年度に引き続き今年度も水熱処理法の媒体に様々な有機酸を混合し、この有機酸による前処理効果の改善効果を検討した。

③当初の計画（全体計画）に対する当該年度の成果の達成状況とインパクト

結果、ある種の有機酸を添加する事で、希硫酸処理法と同等の前処理効果を示す新しい前処理法を確立できた。この前処理法の有意点としては、用いた酸が有機酸であるために、微生物での資化が可能である可能性が高く、希硫酸と比べて前処理後の中和過程での操作を省くことが期待できる。また、前処理後の糖化過程で生成する副産物(微生物に対して発酵阻害を示す)の濃度は、希硫酸前処理法と比較してほぼ同じ濃度であることが明らかとなった。確立した前処理法は、これまで報告が無く、学術的に新しい前処理法である。

2015年（H27）度は、希硫酸前処理に変わる有機酸前処理法の最適化条件の検討、および有機酸と組み合わせが可能となるような添加剤の効果について探索および検討を行う。神戸大学では、LIPIの研究者を2名短期派遣にて招聘予定であり、実験手法および分析方法の指導を行う計画である。LIPIには、神戸大学と同様の機材をすでに導入しており、この研修を通して、神戸大学、LIPIにおいて実験を両サイトで実施可能となる。また、この中の結果については論文として最低1報を英文誌に投稿を計画している。更に、この前処理法により作成された実バイオマスをを用い、[Output 3]と連動して発酵を行い、副産物による阻害効果を検証する予定である。更には、マイクロ波処理法など、ほかの処理法への適用も検討する計画である。

④カウンターパートへの技術移転の状況

日本側（神戸大学）に合計2名の研究者をLIPIより招聘して、神戸大学において共同して前処理技術を構築した。そして、2014年度の機材導入によって、インドネシア側にも神戸大学設置の機器と同様の機器の導入を完了しており、インドネシア側においても、神戸大学での実験と同じ実験を実施可能な状況を、ハードウェア（機材的側面）、ソフトウェア（技術的側面）の両面より可能としている。

⑤当初計画では想定されていなかった新たな展開

ある種の有機酸を用いた場合、希硫酸処理を上回る成果を取得することに成功した。これには特許性がある可能性があり、次年度にその新規性を弁理士と議論する計画である。

(3) Output 2: バイオマス分解に適した酵素の評価

① 研究のねらい

本年度は昨年行ったNBRC公開菌株約300株に加えて550株のスクリーニングを行い、実バイオマスであるバガスを基質として、効率的に分解を行うセルラーゼの探索を行った。

②研究実施方法

NBRC菌株指定の液体培地を用いて4日間培養した後、実バイオマス（1%バガス）入り最少液体培地に植菌し、7日間培養して生育できた培養液をサンプルとした。培養液は12,000g、4℃で5分間遠心して培養上清をサンプルとして用いた。培養液3μlずつを0.5%カルボキシメチルセルロース（CMC）プレートに滴下し、37℃で48時間保温した。その後、0.25% Congo red 用いて30分間染色して1M NaClで活性が確認できるまで振盪した。また、SDS-PAGEとZymogram法でセルラーゼとヘミセルラーゼの活性を確認すると共に培養液と1FPUのCTec2混ぜて糖化実験を行いスクリーニングした。さらに、活性が高かった菌株は大量培養（150ml）して培養液を濃縮し、タンパク質の濃度を測定した後、1FPUのタ

ンパク量の 10 倍量のサンプルと 1FPU の CTec2 と混ぜて糖化実験を行うとともに 1FPU のタンパク量の 10 倍量のサンプルのみでも糖化実験を行った。

③当初の計画（全体計画）に対する当該年度の成果の達成状況とインパクト

NBRC 公開菌株合計約 850 株に対してセルラーゼ分泌株探索を行った結果、約 20 株の放線菌で高いセルラーゼ活性（ハロサイズ 2 cm 以上）を検出することができた。培養液と 1FPU の CTec2 混ぜて糖化実験を行った結果では顕著な相乗効果を表す株はなかった。高いセルラーゼ活性を示した菌株を大量培養して 1FPU のタンパク量の 10 倍量のサンプルと 1FPU の CTec2 と混ぜて糖化実験を行った結果、CTec2 との相乗効果が高い(BSA 効果より高い) 1 株 (No. 247) が確認できた。この株は培養上清（1FPU のタンパク量の 10 倍量のサンプル）のみでも糖化を示した。

2015 年 (H27) 度は、これらの優位性が示された数種類の放線菌株よりセルラーゼ遺伝子の網羅的単離と機能評価を実施する。神戸大学および長崎大学では、LIPI より研修者を招聘して、遺伝子単離に関する技術指導を行うとともに、自身においてもバイオマスを高効率に分解する酵素について遺伝子をクローニングする。そして、得られた遺伝子を用いて組換え酵素の大量生産技術を開発し、得られた酵素製剤の前処理済みバイオマスに対する作用性を [Output 1] と連動して評価する。

④カウンターパートへの技術移転の状況

日本側（神戸大学）に合計 1 名の研究者を LIPI より招聘して、神戸大学においてセルラーゼ生産株の探索に関する基盤技術の技術研修を実施した。そして、2013 年度および 2014 年度の機材導入によって、インドネシア側にも神戸大学設置の機器と同様の機器の導入を完了しており、インドネシア側においても、神戸大学での実験と同じ実験を実施可能な状況を、ハードウェア（機材的側面）、ソフトウェア（技術的側面）の両面より可能としている。

⑤当初計画では想定されていなかった新たな展開

予定通りである。

(4) Output 3: バイオ燃料（エタノール）とバイオ化学品（乳酸）を生産する微生物開発と発酵

① 研究のねらい

2014 年度は、エタノール生産と乳酸生産に適した酵母株を高速かつ適切に選抜するために、NBRC の酵母株（現時点では約 1500 株）をモデルライブラリーとして用い、スクリーニング手法を確立することを目指した。

② 研究実施方法

実験方法としては、実バイオマスの糖化液を想定して、グルコース及びキシロース、さらには高濃度の複数の副生成物（酢酸、ギ酸等）から構成されるモデル発酵培地を作製し、この培地中の高温（35℃）で増殖し発酵する酵母株の選抜及び発酵特性の解析を確立した。また、多検体スクリーニング（一度 96 検体）を可能にするために、スクリーニングはディープウェルで行い、分析は多検体分析に適している高速 HPLC を用いて行った。本手法は InaCC ライブラリーを想定した探索にも適しており、現在インドネシアでは同じ手法で InaCC の酵母ライブラリー（約 800 株）のスクリーニングも実施中である。

③当初の計画（全体計画）に対する当該年度の成果の達成状況とインパクト

昨年度の 500 株に加えてさらに 1000 株の NBRC の酵母を用いて、その実現可能性（対阻害物（酢酸、フルフラール等）耐性、対グルコースおよびキシロース資化性能）を検証した。その結果、エタノール生産用宿主株として新たに 2 株、また乳酸生産用の候補宿主として 8 株の酵母株の選抜に成功した。何れの株も、これまでに上記の目的で使用された経験の無い株であり、非常に新しい知見を有している。

また、インドネシア側では同じ手法でエタノール生産用宿主株として 2 株、また乳酸生産用の候補宿主として 2 株、酵母株の選抜にも成功した。

さらに今年度、表層提示するための遺伝子発現系の構築を目指し、表層提示するための酵母のアンカータンパクをコーディングする遺伝子のクローニングも進行している。次年度は Output2 で獲得したセルラーゼタンパクとの融合タンパクの構築を行い、優秀なエタノール発酵酵母および乳酸発酵酵母での表層提示を行う計画である。乳酸発酵関係ではすでに *Bos taurus* (Bt) 由来 L 型乳酸発酵遺伝子を基に発現系の構築も行った。確認のために、実験室酵母である *Saccharomyces cerevisiae* BY4743 株に導入し、グルコースを含んだ YPD 培地で発酵を行ってみた。その結果、グルコース 20 g/l から L 型乳酸を約 2g/l 程度生産できることを確認した。本酵母はエタノールを約 8g/l 程度生産したためであるが、今後本発現系をエタノールの生産しないクラブツリ陰性酵母に導入すると乳酸発酵においてより効率の高い結果が得られると期待できる。

また、長崎大学では、バイオマス分解に適した酵素を酵母細胞表層に提示して評価するために必要な基盤技術として、パン酵母 (*S. cerevisiae*) の実験室株で常法となっている酢酸リチウム法やエレクトロポレーション法での遺伝子導入が困難な多様な子囊菌類での遺伝子導入例が報告されているアグロバクテリウム感染法 (*Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation; ATMT) による野生型酵母へ遺伝子導入技術基盤の構築を進めた。具体的には、植物用に開発された pBI121 バイナリープラスミドのボーダー領域 (LB, RB) の間に酵母用の薬剤耐性マーカーとなる抗生物質 G418 に耐性を付与する kanMX を導入した酵母用のバイナリープラスミドの構築を進行中である。現在までに、野生型酵母ゲノム上でランダムに遺伝子が導入される遺伝子導入用基本ベクターの構築が完了している。

2015 年 (H27) 度は、これらの成果をもとに、これまでに見出された全ての株に関して発酵実験および遺伝子工学的的手法によるアーミング技術の適用性を評価する。まず、エタノール生産株に関しては実際のバガス糖化液（もしくは前処理バガス）を用いて、エタノールの高濃度生産を目指す。そして、中間目標値である 50g/L の目標値を達成することを目指す。乳酸生産株に関しては、乳酸合成遺伝子を導入することで、まずはグルコースからの生産を検討し、その後に実バイオマスからの生産を検証する。これに併せて更に、選抜した候補宿主株の実バイオマス発酵生産において重要な代謝機能を解明すると計画している。神戸大学では、LIPI の研究者を 2 名派遣 (SATREPS による招聘および国費留学生制度の活用を目指す) にて招聘予定であり、分子生物学、および発酵技術の技術指導を日本側にて実施予定である。

④カウンターパートへの技術移転の状況

日本側（神戸大学）に合計 1 名の研究者を LIPI より招聘して、神戸大学において酵母株の選抜や代謝解析に関する基盤技術の技術研修を実施した。そして、2013 年度および 2014 年度の機材導入によっ

て、インドネシア側にも神戸大学設置の機器と同様の機器の導入を完了しており、インドネシア側においても、神戸大学での実験と同じ実験を実施可能な状況を、ハードウェア（機材的側面）、ソフトウェア（技術的側面）の両面より可能としている。

⑤当初計画では想定されていなかった新たな展開

NBRC および BTCC のライブラリーに登録されている菌体には、これまでに我々が見出すことが出来なかった特徴的な発酵特性を示す菌株が多く登録されており、これまでのバイオエタノール生産研究に用いた株を凌駕する有能な菌株を見出せた。これは、今後バイオエタノール生産やその工業化に、早い段階で関連できる、有能な技術であると考えている。そのために、現在、特許出願の準備を進めている。

(5) Output 4: バイオマスからバイオベースポリマーを開発

① 研究のねらい

バイオマス由来の発酵された乳酸を用いて、ポリ乳酸を合成する新規な技術を開発することである。

②研究実施方法、および③当初の計画（全体計画）に対する当該年度の成果の達成状況とインパクト

LIPI にて開発された化学触媒を用いることで、乳酸を原料として、ポリ乳酸を合成する事が可能となった。しかしながら、その重合高分子量はまだ低い状況である。

2015 年（H27）度も本年に、化学触媒の機能開発を推進する。特に、水系にて機能を発揮する化学触媒を開発する計画である。また、バイオポリマーの修飾、そしてバイオポリマーとセルロースおよびバイオポリマーのみからなる複合材料開発による高機能化についても検討する。更にはリグニンの有効利用性についても調査を開始する。神戸大学では、引き続き、LIPI にて作成されたサンプルの分析を行い、その結果に基づいて学術的側面からの指導を行う。

④カウンターパートへの技術移転の状況

次年度、LIPI にポリ乳酸の分子量を測定するための分子量測定装置を導入する予定である。本年度は、LIPI で合成されたポリ乳酸を神戸大学に持参して、神戸大学にて測定評価し、その測定技術の研修を行った段階である。

⑤当初計画では想定されていなかった新たな展開

該当事項なし。

(6) Output 5: フィージビリティスタディと統合バイオリファイナリープロセスの構築

① プロジェクトのねらい

目的は、日本の化学企業とインドネシアのバイオマス関連企業の橋渡しを行い、バイオマスコンビナートおよびバイオリファイナリー事業を、インドネシアで推進することである。そして、日本、インドネシアの両方の企業群にとって Win-Win の関係を構築することである。

②研究実施方法

2014年12月に、日本のバイオマス事業に興味を有する化学企業の技術者・研究者と共にインドネシアに行き、インドネシアのプランテーション(今回はスラバラ近郊のモジョケルトにあるPTPN10)、及び製糖企業の見学を実施した。さらに、バイオマスリファイナリーの実現可能性について議論を行う情報交流会(ビジネスミーティング)を実施した。

③当初の計画(全体計画)に対する当該年度の成果の達成状況とインパクト

スラバヤの製糖工場を見学し、サトウキビからの製糖工場ではその搾汁残渣(バガス)の余剰はそんなに多くない事が明らかとなった。その理由は製糖工場で使用される熱源への転換で、その殆どが使用されてしまうからである。しかしながら、バガスはプランテーションから発生する優良な廃棄性バイオマスであり、製糖工場のプロセス機器の改善によって、バガスの余剰を増やすことが出来ることも議論から明らかになり、今後は、製糖工場のプロセス改善と併せて、バイオリファイナリー産業の導入が重要になってくると認識できた。ビジネスミーティングは、日本側3社、インドネシア側5社の参画によって実施された。バイオエタノールや乳酸に関する議論は活発に出来なかったが、他のバイオマスの有効利用に関して有益な意見交換が出来た。

2015年(H27)度は、昨年度に引き続き、インドネシアのプランテーション現場(今年度はパームを予定)見学と、新大統領が計画しているサイエンステクノパーク計画によるバイオマスコンビナートの可能性に意見交換を行う予定である。さらには、継続して、日本企業とインドネシア企業間でのビジネスマッチングの機会(ビジネスミーティング)を設ける計画である。そして、バイオマスコンビナート計画、もしくはバイオリファイナリーの社会実装を推進していく。

④カウンターパートへの技術移転の状況

該当項目なし

⑤当初計画では想定されていなかった新たな展開

該当項目なし

II. 今後のプロジェクトの進め方、および成果達成の見通し（公開）

現在、本プロジェクト、Output1～3 はほぼ計画通りに進行していると考えている。一点、懸念事項としては、InaCC のカルチャーコレクションへのアクセスに関してであるが、この件も、我々のプロジェクトに先行して進行中の NITE・NBRC の鈴木博士の SATREPS「生命科学研究及びバイオテクノロジー促進のための国際標準の微生物資源センターの構築」によって、その利用に関する制度設計が構築されつつあり、2015 年度の早い段階において、そのコレクションを用いた Output2 および 3 におけるスクリーニングが実施可能になると判断している。

Output4 に関しては、当初の予定より約 1 年の遅延があるが、ようやくポリ乳酸の化学的合成を新規手法にて達成する事が出来るようになってきた。今後は、化学触媒の精密設計を、両国の研究者で進めていけば計画に準じて進行を速める事が可能となると期待する。

Output5 に関しては、このプロジェクトの社会実装が最終目標であり、一つのアウトカムズの形としては、インドネシアでのバイオマス関連事業の起業であると考えている。そのためには、日本企業とインドネシア現地企業の情報交換を推し進めて、両者にとって(経済性の観点で)有益性のある意見交換が出来る場を常に提供することであると考えている。2014 年度に実施したビジネスミーティングは参加企業数は少なかったが、その会議での意見交換は非常に有益なものであった。従って 2015 年度も、積極的にこのミーティングの開催計画を進めるとともに、2014 年度にコネクションを形成した企業間の情報交換も積極的に継続して行きたいと考えている。

全体的なプロジェクトの運営に関しての懸念事項としては、Output1～4 は研究計画であるが、Output5 は両国間のコミュニケーションを主としており、この研究とコミュニケーションを、どの様に有機的に融合するかが 2015 年度以降の議論項目であると考えている。

Ⅲ. 国際共同研究実施上の課題とそれを克服するための工夫、教訓など（公開）

(1) プロジェクト全体

プロジェクト全体の現状と課題： Output1～4は研究計画であるが、Output5は両国間のコミュニケーションを主としており、この研究とコミュニケーションを、どの様に有機的に融合するかが2015年度以降の議論項目であると考えている。

各種課題を踏まえ、研究プロジェクトの妥当性・有効性・効率性・自立発展性・インパクトを高めるために実際に行った工夫：2014年度は積極的に国際学会で発表を行い、アジア地区での本プロジェクトのプレゼンスを高めてきた。2015年度はこれまでの成果を論文化していく事が重要であり、それによって高いインパクトを示して行きたいと考えている。

プロジェクトの自立発展性向上のために、今後相手国（研究機関・研究者）が取り組む必要のある事項：バイオリファイナリー研究は、基礎研究を推進するだけでは社会貢献は無理であり、如何に企業を巻き込んで社会実装するかがポイントとなる。企業との共同研究をインドネシア側にて実施が可能となれば、自立的発展を可能とする、予算的問題も解消されると判断する。

(2) Output 1: 効率的なバイオマス前処理条件の確立

相手国側研究機関との共同研究実施状況と問題点、その問題点を克服するための工夫、今後への活用：これまでに複数の実験機器を導入したが、その機器の自主的な維持が出来るかどうか懸念事項である。

類似プロジェクト、類似分野への今後の協力実施にあたっての教訓、提言等：希硫酸に変わる新しい前処理法を確立する計画であるが、この分野は、全世界的に研究者が多く、一刻も早く論文化する事が重要である。

(3) Output 2: バイオマス分解に適した酵素の評価

相手国側研究機関との共同研究実施状況と問題点、その問題点を克服するための工夫、今後への活用：これまでに複数の実験機器を導入したが、その機器の自主的な維持が出来るかどうか懸念事項である。

類似プロジェクト、類似分野への今後の協力実施にあたっての教訓、提言等：現在、NBRC および BTCC のカルチャーコレクションを利用した探索を進めている。しかしながら、InaCC のコレクションにはアクセスが未だ出来ていない。2015年度は、契約・手続きを進めて、必ず着手したいと願っている。もしくは、BTCC より有望株を見出した後に、その株を InaCC に登録して、国際的な取り扱いを可能にするプロセスについても議論を行う必要がある。

(4) Output 3: バイオ燃料（エタノール）とバイオ化学品（乳酸）を生産する微生物開発と発酵

相手国側研究機関との共同研究実施状況と問題点、その問題点を克服するための工夫、今後への活用：これまでに複数の実験機器を導入したが、その機器の自主的な維持が出来るかどうか懸念事項である。

類似プロジェクト、類似分野への今後の協力実施にあたっての教訓、提言等：すでに複数の有力株を

これまでのコレクションより探索できた。これらの有力株は、特許性が高い。従って、特許出願の後に、論文化を図りたいと考える。

(5) Output 4: バイオマスからバイオベースポリマーを開発

相手国側研究機関との共同研究実施状況と問題点、その問題点を克服するための工夫、今後への活用：今後の研究加速が重要

類似プロジェクト、類似分野への今後の協力実施にあたっての教訓、提言等：ポリ乳酸の化学的合成は世界的にも研究者が多いので、知財化と論文化を必ず進める必要がある。

(6) Output 5: フィージビリティスタディと統合バイオリファイナリープロセスの構築

相手国側研究機関との共同研究実施状況と問題点、その問題点を克服するための工夫、今後への活用：2014年度と同様に、継続的に両国間のビジネスミーティングの実施、国際シンポジウムの実施が必要である。

類似プロジェクト、類似分野への今後の協力実施にあたっての教訓、提言等：SATREPS で実施されている類似性のあるプロジェクトが複数あるので、これらのプロジェクトの合同シンポジウムを開催し、各プロジェクトの進捗状況に関する意見交換、および意見交換の場を設けて頂きたい。

IV. 社会実装（研究成果の社会還元）（公開）

(1) 成果展開事例

該当事項なし

(2) 社会実装に向けた取り組み

このプロジェクトの社会実装が最終目標であり、一つのアウトカムズの形としては、インドネシアでのバイオマス関連事業の起業であると考えている。そのためには、日本企業とインドネシア現地企業の情報交換を推し進めて、両者にとって（経済性の観点で）有益性のある意見交換が出来る場を常に提供することであると考えている。また、国際シンポジウムをインドネシアの各地で開催し、バイオマスの有効利用に関して、情報の普及活動を行っていく。

V. 日本のプレゼンスの向上（公開）

該当なし

VI. 成果発表等（公開）

VII. 投入実績（非公開）

VIII. その他（公開）

以上

VI(1)(公開)論文発表等

	国内	国際
原著論文 本プロジェクト期間累積件数		

①原著論文(相手側研究チームとの共著論文)

著者名,論文名,掲載誌名,出版年,巻数,号数,はじめ-おわりのページ	DOIコード	国内誌/ 国際誌の別	発表日 ・出版日	特記事項 (分野トップレベル雑誌への掲載など、特筆すべき論文の場合、ここに明記)

論文数 0 件
 うち国内誌 0 件
 うち国際誌 0 件
 公開すべきでない論文 件

②原著論文(相手側研究チームとの共著でない論文)

著者名,論文名,掲載誌名,出版年,巻数,号数,はじめ-おわりのページ	DOIコード	国内誌/ 国際誌の別	発表日 ・出版日	特記事項 (分野トップレベル雑誌への掲載など、特筆すべき論文の場合、ここに明記)

論文数 0 件
 うち国内誌 0 件
 うち国際誌 0 件
 公開すべきでない論文 件

	国内	国際
その他の著作物 本プロジェクト期間累積件数		

③その他の著作物(相手側研究チームとの共著のみ)(総説、書籍など)

著者名,タイトル,掲載誌名,巻数,号数,頁,年		出版物の種類	発表日・出版日	特記事項

著作物数 0 件
 公開すべきでない著作物 0 件

④その他の著作物(相手側研究チームとの共著でないもの)(総説、書籍など)

著者名,論文名,掲載誌名,出版年,巻数,号数,はじめ-おわりのページ		出版物の種類	発表日・出版日	特記事項

著作物数 0 件
 公開すべきでない著作物 0 件

⑤研修コースや開発されたマニュアル等

研修コース概要(コース目的、対象、参加資格等)、研修実施数と修了者数	開発したテキスト・マニュアル類	特記事項

VI(2)(公開)学会発表

	国内	国際
招待講演 本プロジェクト期間累積件数	1	
口頭発表 本プロジェクト期間累積件数	2	5
ポスター発表 本プロジェクト期間累積件数		

①学会発表(相手側研究チームと連名のもののみ)(国際会議発表及び主要な国内学会発表)

年度	国際の 別	発表者(所属)、タイトル、学会名、場所、月日等	招待講演	口頭発表	ポスター発表
2014	国際学会	Nanik Rahmani ¹ , Pamela Apriliana ¹ , Alifah M. Jannah ¹ , Santi Ratnakomala ¹ , Puspita Lisdiyanti ¹ , Yopi ¹ , Bambang Prasetya ¹ , Prihardi Kahar ² , Chiaki Ogino ² , Akihiko Kondo ² : Output 2-Production and Evaluation of Lignocellulose degradation enzymes: International Symposium of Integrated Biorefinery (ISIBio): 9月25日		○	
2014	国際学会	Nanik Rahmani ¹ , Norimasa Kashiwagi ² , JaeMin Lee ² , Satoko Niimi-Nakamura ² , Hana Matsumoto ² , Prihardi Kahar ² , Puspita Lisdiyanti ¹ , Yopi ¹ , Bambang Prasetya ¹ , Chiaki Ogino ² , Akihiko Kondo ² : Cloning and expression of gene encoding GH5-family Endo β-1,4-mannanase from rare actinomycete isolated from Indonesian soil in Streptomyces lividans 1326 and its characterization: International Symposium of Integrated Biorefinery (ISIBio): 9月25日		○	
2014	国際学会	Atit Kanti ¹ , Senlie Octaviana ¹ , Apridah CD ¹ , Ario B ¹ , Hans W ¹ , Ahmad Thontowi ¹ , Yopi ¹ , Prihardi Kahar ² , Chiaki Ogino ² , Akihiko Kondo ² : Output 3-Screening of Bioethanol Producing Yeast: International Symposium of Integrated Biorefinery (ISIBio): 9月25日		○	
※1-LIPI, 2-神戸大学			0	3	0

件

②学会発表(相手側研究チームと連名でないもの)(国際会議発表及び主要な国内学会発表)

年度	国際の 別	発表者(所属)、タイトル、学会名、場所、月日等	招待講演	口頭発表	ポスター発表
2014	国際学会	Prihardi Kahar, JaeMin Lee, Chiaki Ogino, Akihiko Kondo, (神戸大学): Exploration of yeast strains capable of utilizing lignocellulosic biomass for production of ethanol and lactic acid: International Symposium of Integrated Biorefinery (ISIBio): 9月25日		○	
2014	国際学会	Chiaki Ogino, Prihardi kahar, JaeMin Lee, Norimasa kashiwagi, Akihiko Kondo, (神戸大学) Young Asian Biochemical Engineers' Community (YABEC)2014 Microbial screening for biorefinery research: National Chung Cheng University(台湾): 11月6~8		○	
2015	国内学会	Chiaki Ogino, Prihardi Kahar, JaeMin Lee, Akihiko Kondo, (神戸大学): Japan-Europe academic workshop for sharing ideas and experiences towards strategic partnership building International networking biobased chemical production in Asia: International collaboration between Japan and Indonesia in Biorefinery by SATREPS project: 神戸大学(神戸): 2月4日	○		
2015	国内学会	Prihardi Kahar, 李載ミン, 松本華, 大塚裕美, 荻野千秋, 近藤昭彦, (神戸大学): 実バイオマスからエタノール発酵するための酵母株の探索: 第9回日本ゲノム微生物学会大会: 神戸大学(神戸): 3月8日		○	
2015	国内学会	Prihardy Kahar, 李載ミン, 荻野千秋, 近藤昭彦, (神戸大学): 実バイオマスを微生物交換するための新しい酵母プラットフォームの探索: 日本農芸化学会2015大会: 岡山大学(岡山): 3月28日		○	
			1	4	0

件

VI(3) (特許出願した発明件数のみを公開し、他は非公開) 特許出願

①国内出願

	出願番号	出願日	発明の名称	出願人	知的財産権の種類、出願国等	相手国側研究メンバーの共同発明者への参加の有無	その他 (出願取り下げ等についても、こちらに記載して下さい)	関連する論文のDOI	発明者	発明者所属機関	関連する外国出願※
No.1											
No.2											
No.3											
No.4											
No.5											
No.6											
No.7											
No.8											
No.9											
No.10											

国内特許出願数
公開すべきでない特許出願数

②外国出願

	出願番号	出願日	発明の名称	出願人	知的財産権の種類、出願国等	相手国側研究メンバーの共同発明者への参加の有無	その他 (出願取り下げ等についても、こちらに記載して下さい)	関連する論文のDOI	発明者	発明者所属機関	関連する国内出願※
No.1											
No.2											
No.3											
No.4											
No.5											
No.6											
No.7											
No.8											
No.9											
No.10											

外国特許出願数
公開すべきでない特許出願数

VI(5) (公開) ワークショップ・セミナー・シンポジウム・アウトリーチ等の活動

① ワークショップ・セミナー・シンポジウム・アウトリーチ等

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2014年9月25日	第1回バイオリファイナリー国際シンポジウム	ボゴール (インドネシア)	100人程度	本SATREPSプロジェクトをインドネシアを含む東南アジア地域の研究者および技術者に広く情報発信するために開催した
2014年10月20日～25日	研究報告会、および日本国内企業の見学会(2)	兵庫県(日本)	7名程度	神戸大学にて研究報告会を実施し、その後に、住友化学(大阪府)、および酵素製造メーカー(岐阜県)の見学会を実施した。
2014年12月9日	プランテーション見学およびビジネスミーティング	ボゴール (インドネシア)	40人程度	本SATREPSプロジェクトの社会実装に向けて、インドネシア企業と日本企業の連携を模索する非公開会議を実施した。

② 合同調整委員会開催記録(開催日、出席者、議題、協議概要等)

年月日	出席者	議題	概要
2015年3月3日	(日本側) 荻野千秋、Prihardi Kahar (イ側) プロジェクト代表、LIP1副長官、各プロジェクトのC/P研究所の所長及び各アウトプット研究代表者、インドネシア大学の研究者	年次計画策定	2014年度活動報告及び2015年度活動計画

研究課題名	インドネシアにおける統合バイオリファイナリーシステムの開発
研究代表者名 (所属機関)	荻野千秋(国立大学法人神戸大学大学院工学研究科)
研究期間	H24採択 平成25年11月から平成30年11月(5年間)
相手国/主要研究機関	インドネシア共和国/インドネシア科学院(LIPI)

付随的成果

日本政府、社会、産業への貢献	日本のバイオマス関連化学企業とインドネシアの企業の情報交換を通じた、ジョイントベンチャー(JV)の可能性を模索
科学技術の発展	機能未知のインドネシアの生物資源の産業界への還元
知財の獲得、国際標準化の推進、生物資源へのアクセス等	特許出願【予定】 名古屋議定書に従ったインドネシア微生物資源の工業利用計画の確立
世界で活躍できる日本人材の育成	インドネシア大学と神戸大学の国際単位互換システムの創設【予定】
技術及び人的ネットワークの構築	国費留学生として複数名を受け入れ、本分野のインドネシアでの学問領域の普及を図る
成果物(提言書、論文、プログラム、マニュアル、データなど)	<ul style="list-style-type: none"> ・査読付論文掲載 ・バイオマス白書の作成 ・国際会議 ・招待講演 ・新聞

上位目標

化石資源と競合しない非可食性バイオマス資源を用いたバイオ燃料・バイオ化学品生産に関わる基盤技術(バイオリファイナリー)の成果がインドネシアをはじめとするバイオマスを豊富に生産する東南アジアの国々に広く還元される。

バイオリファイナリー技術体系が政府機関、民間企業などに認められ、低炭素社会の構築に向けて、化学企業などに於いて社会実装に向けた取り組みが着手される。

プロジェクト目標

バイオリファイナリー技術の体系化に必要なバイオマス前処理、バイオマス分解酵素開発、微生物宿主の分子育種(代謝工学、及び細胞表層工学)、及び膜分離技術を用いた発酵試験液濃縮技術を確立し、バイオマス利活用対策及び科学技術水準の向上につながる新たな知見を集積する。

- ① バイオマスからの低コストなバイオ燃料及びバイオ化学品の製造技術が構築され、これらの社会実装が行われる
- ② バイオ膜分離およびバイオプロセスの一貫化によるバイオ燃料及びバイオ化学品の環境適応型生産技術が構築され、社会実装に向けた基盤構築を行う

